



ISSN 0215-1995

Majalah Ilmu Faal Indonesia

The Indonesian Journal of Physiology

Pengaruh Lamanya Intensitas Pemakaian Komputer terhadap terjadinya *Computer Vision Syndrome* (CVS)

Potensi Melatonin Secara Fotoneuroendokrin sebagai Antioksidan Alamiah

Penggunaan Antikanker Sari Buah Merah (*Pandanus conoideus*) terhadap Kultur Sel Mieloma

Tingkat Serapan Hara dan Produksi Tanaman Kentang dan Tomat sebagai Respon Terhadap Pupuk Hayati

Studi SHP dan Protein Stat pada Transduksi Signal Hormon Pertumbuhan (*Growth Hormone*) dengan Teknik *Blotting*

Uji Spesifisitas Protein Prolaktin dari Serum Darah Itik *Molting* melalui Metode *Western Blot*

Pengaruh Pemberian Kafein terhadap Penghematan Glikogen Otot pada Latihan Submaksimal

Rasio Netrofil/Limfosit (N/L) sebagai Indikator Stres Pada Owa Jawa (*Hylobates moloch audebert 1797*) Di Tempat Penangkaran

Potensi *Capping Phenomena* dalam Analisis Asosiasi HLA dengan Diabetes Mellitus Type 2

Peran Endocannabinoid dalam Pengaturan Nafsu Makan

Apoptosis: Melalui Mekanismenya Menjadikan Dasar Strategi Terapi

Peran Peptida YY pada Regulasi Homeostasis Energi

Volume 7	No. 2	Hal 74 - 154	SURABAYA Februari 2008
----------	-------	-----------------	---------------------------

Akreditasi Dirjen Dikti
No. 56/Dikti/Kep/2005

MAJALAH ILMU FAAL INDONESIA

The Indonesian Journal of Physiology

VOLUME 7 NOMOR 2 , FEBRUARI 2008



Majalah Ilmu Faal Indonesia memuat tulisan ilmiah yang terkait dengan bidang fisiologi .
Terbit setiap 4 bulan, berdasarkan SK Ketua Umum Pengurus Pusat Ikatan Ahli Ilmu Faal
Indonesia No. 001/SK/IAIFI/IX/2000, tanggal 14 September 2000

Susunan Dewan Redaksi

Ketua Penyunting

Anwar Ma'ruf

Sekretaris

Purwo Sri Rejeki

Bendahara

Ratna Damayanti

Iklan dan Langganan

Yuliati

Penyunting Pelaksana

Lilik Herawati

Bambang Purwanto

Rd. Argarini

Penyunting Teknik

Kuncoro Puguh Santoso

Suyanto

Tata Usaha

Muhammad Taufik Kurniadi

Alamat : Departemen Faal Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
Jl. Mayjen. Prof.Dr. Moestopo 47 Surabaya 60132
Tlp. (031) 5023621 Fax (031) 502247 E-mail : mifi@telkom.net
Rekening : Ratna Damayanti, drh., M.Kes
Bank NIAGA IBC Dharmahusada Surabaya No. 033-01-11506-13-2

MAJALAH ILMU FAAL INDONESIA diterbitkan oleh **Ikatan Ahli Ilmu Faal Indonesia (IAIFI)**

Harga berlangganan : Rp. 40.000,00 per nomor

MAJALAH ILMU FAAL INDONESIA**The Indonesian Journal of Physiology**

VOLUME 7 NOMOR 2 , FEBRUARI 2008

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	ii
Pengaruh Lamanya Intensitas Pemakaian Komputer terhadap Terjadinya <i>Computer Vision Syndrome (CVS)</i> Ratna Indriawati, Rakhmawati Lailiana Putri	74
Potensi Melatonin secara Fotoneuroendokrin sebagai Antioksidan Alamiah Ratna Damayanti, Anwar Ma'ruf, Kuncoro Puguh Santoso, Nove Hidajati	82
Penggunaan Antikanker Sari Buah Merah (<i>Pandanus Conoideus</i>) terhadap Kultur Sel Mieloma Rochmah Kurnijasanti, Reni I'tishom	86
Tingkat Serapan Hara dan Produksi Tanaman Kentang dan Tomat Sebagai Respon terhadap Pupuk Hayati Hamim, Nisa Rachmania, Ida Hanarida, Nani Sumarni	91
Studi SHP dan Protein Stat pada Transduksi Signal Hormon Pertumbuhan (<i>Growth Hormone</i>) dengan Teknik <i>Blotting</i> Anwar Ma'ruf, Nove Hidajati	101
Uji Spesifisitas Protein Prolaktin dari Serum Darah Itik <i>Molting</i> melalui Metode <i>Western Blot</i> Pudji Srianoto	106
Pengaruh Pemberian Kafein terhadap Penghematan Glikogen Otot pada Latihan Submaksimal Hayati	111
Rasio Netrofil/Limfosit (N/L) sebagai Indikator Stres pada Owa Jawa (<i>Hylobates Moloch</i> Audebert 1797) di Tempat Penangkaran Hera Maheshwari, Luthfiralda Sjahfirdi, Pudji Astuti, Yulnawati	116
Potensi <i>Capping Phenomena</i> dalam Analisis Asosiasi HLA dengan Diabetes Mellitus Tipe 2 F.M. Judajana	123
Peran Endocannabinoid dalam Pengaturan Nafsu Makan Rd. Argarini, Choesnan Effendi	131
Apoptosis: Melalui Mekanismenya Menjadikan Dasar Strategi Terapi Ngakan Made Rai Widjaja	138
Peran Peptida YY pada Regulasi Homeostasis Energi Purwo Sri Rejeki, Raden Argarini	149

Penggunaan Antikanker Sari Buah Merah
(*Pandanus Conoideus*) Terhadap Kultur Sel Mieloma
Anticancer Effect of Red Fruit's (*Pandanus conoideus*)
On Myeloma Cell Culture

Rochmah Kurnijasanti, Reny I'tishom
Departemen Kedokteran Dasar Veteriner
Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Airlangga
Jl. Mulyorejo Surabaya 60115
Tlp. (031) 5992785 E-mail: vetunair@telkom.net

Abstract

The red fruit (*Pandanus conoideus*) has been reported as useful traditional anticancer agent but not scientifically proven. The aim of this study was to test the *in vitro* cytotoxic effect of the red fruit's extract on cell culture of myeloma. The concentrations of red fruit extract used were 5, 2.5, 1.25, 0.625 and 0.312 mg/ml. Methanol was used as solution control in five different concentrations (10; 5; 2.5; 1.25; and 0.625) mg/ml while RPMI was used as negative control. The solution was added into the myeloma cell culture in microwell plate and incubated for 24 hours at 37°C in CO₂ incubator. The anticancer activity was determined using the viability of myeloma cell. The data showed that the extract of red fruit (*Pandanus conoideus*) has a weak anticancer activity when the extract caused significant ($p < 0.05$) reduction in viability of myeloma cells compared to negative control. However, the positive control revealed a much more reduction in viability, significantly ($p < 0.05$) less than the red fruit extract. The concentration of 5 mg/ml had been shown to kill 24.75% of myeloma cells.

Keywords: Anticancer, *Pandanus conoideus*, Myeloma

PENDAHULUAN

Buah Merah (*Pandanus conoideus*) merupakan salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat tradisional untuk mengatasi berbagai keluhan antara lain untuk diabetes, liver, antimikroba, hipertensi dan kanker (Budi, 1998; Naigggolan, 2001). Dari laporan Departemen Kesehatan menyatakan bahwa kandungan total karotennya cukup tinggi yaitu 200.000 mg per 100 gr buah merah, termasuk didalamnya beta karoten. Beta karoten diperkirakan mempunyai beberapa kemampuan yang diperlukan untuk mempertahankan kesehatan manusia yaitu sebagai antioksidan, imunomodulator, antikanker dan antiaterogenik.

Kanker merupakan penyebab kematian kedua setelah penyakit kardiovaskuler di negara maju, sedangkan di negara berkembang merupakan penyebab utama kematian (Rang *et al.*, 1995).

Menurut survei dari badan Litbangkes tahun 1986 ditemukan bahwa 4,3 % dari seluruh kematian disebabkan oleh kanker, dan angka ini menunjukkan peningkatan dari tahun ke tahun (Dalimartha, 2003).

Kanker merupakan penyakit yang ditandai dengan adanya pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang tidak normal, cepat dan tidak terkendali. Kanker terjadi karena sel kehilangan responnya untuk mengontrol pertumbuhan dan melanjutkan pembelahan sehingga menghasilkan sel yang lebih banyak. Kanker dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain zat kimia, radiasi, infeksi ataupun genetik (Katzung, 1995).

Pengobatan terhadap kanker dapat dilakukan melalui operasi, radiasi atau dengan memberikan kemoterapi. Penggunaan antikanker yang ideal adalah antikanker yang memiliki toksisitas selektif artinya menghancurkan sel kanker tanpa

merusak sel jaringan normal. Antikanker yang ada sekarang pada umumnya menekan pertumbuhan atau proliferasi sel dan menimbulkan toksisitas karena menghambat pembelahan sel normal yang proliferasinya cepat antara lain sumsum tulang, mukosa saluran cerna, folikel rambut dan jaringan limfosit. Minat terhadap penggunaan obat tradisional khususnya untuk penyakit kanker akhir-akhir ini cenderung meningkat. Kecenderungan tersebut kemungkinan disebabkan adanya kekhawatiran akan efek samping yang ditimbulkan oleh obat-obat modern dan juga dengan alasan obat tradisional mudah didapat dan murah harganya (Hargono, 1993).

Metode pengujian untuk mengetahui aktivitas biologis suatu senyawa dari bahan alam telah diperkenalkan. Uji sitotoksik merupakan salah satu pengembangan metode untuk memprediksi keberadaan senyawa yang bersifat toksik pada sel yang merupakan syarat mutlak untuk obat-obat antikanker. Pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antikanker ekstrak buah merah pada kultur sel mieloma dengan metode viabilitas sel. Metode viabilitas sel didasarkan pada kemampuan sel untuk bertahan hidup terhadap bahan-bahan yang bersifat toksik.

Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efek sitotoksik dari sari buah merah (*Pandanus conoideus*) secara *in vitro* terhadap kultur sel mieloma, serta membuktikan bahwa sari buah merah (*Pandanus conoideus*) dapat menurunkan viabilitas dari sel mieloma.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan memakai rancangan eksperimental murni *post test only design*. Bahan penelitian yang digunakan adalah sari buah merah (Papua Sejahtera), Kultur sel mieloma jenis *cell lines* NSO/1 (Laboratorium Zoonosis PUSVETMA Surabaya), Fetal Bovine Serum (GIBCOBRL), Media RPMI (GIBCOBRL) yang mengandung antibiotik kanamisin 0,1 g/L; streptomisin 0,15 g/L dan penisillin 0,1 g/L, metanol, Tripkan blue 0,5 %. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol kultur sel, *microwell plate disposable* dengan

24 sumuran (*Nunc Multidisk*), tabung sentrifuse, mikropipet, inkubator CO₂, hemositometer beserta *cover glass* dan mikroskop.

Pembuatan sediaan uji dilakukan dengan menimbang 50 mg sari buah merah (Papua Sejahtera), kemudian dilarutkan dengan 1 ml DMSO dalam vial steril sampai larut kemudian ditambah dengan media RPMI sampai tepat 10 ml dan dihomogenkan. Larutan induk yang diperoleh (konsentrasi 5 mg/ml) selanjutnya disterilkan dengan filter membran. Dari sediaan steril larutan induk tersebut dibuat sediaan uji dengan berbagai konsentrasi dengan cara pengenceran secara serial sehingga diperoleh konsentrasi: 5 mg/ml, 2,5 mg/ml; 1,25 mg/ml; 0,625 mg/ml dan 0,312 mg/ml.

Pembuatan Sediaan Kontrol Pelarut (Kontrol Negatif)

Sebanyak 1 ml DMSO ditambah dengan media RPMI sampai tepat 10 ml kemudian dihomogenkan. Dari larutan induk tersebut diambil 0,1 ml dan dimasukkan ke dalam *microwell plate*. Dan ditambahkan media RPMI berisi sel mieloma yang telah disiapkan untuk uji aktivitas antikanker ke dalam *microwell plate* tersebut sampai 1,0 ml.

Pembuatan Larutan Kontrol Positif Etoposida

Sediaan larutan injeksi etoposida 100 mg/5ml sebanyak 2,5 ml, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan DMSO 1 ml kemudian ditambahkan media RPMI sampai volumenya menjadi 10 ml dan dikocok sampai homogen sehingga diperoleh larutan etoposida dengan konsentrasi 50 mg/10 ml. Dari larutan induk tersebut diencerkan dengan menambahkan media RPMI sampai diperoleh larutan etoposida dengan konsentrasi 0,05 mg/ml atau 50 µg/ml. Larutan induk etoposida diambil sebanyak 0,1 ml dan diletakkan dalam *microwell plate* dan ditambahkan media RPMI berisi sel mieloma yang telah disiapkan untuk uji aktivitas antikanker sampai 1 ml kemudian dihomogenkan, sehingga diperoleh larutan kontrol positif etoposida dengan konsentrasi 5 µg/ml.

Pembuatan Suspensi Sel

Proses *thawing* sel mieloma dilakukan dengan sentrifus sel mieloma kecepatan 1500 rpm suhu 4°C selama 5 menit, kemudian supernatan dibuang sedangkan endapan sel dicampur dengan media RPMI dan dipindahkan ke dalam botol kultur sambil ditambah dengan media RPMI yang mengandung *Fetal Bovine Serum* 10% hingga volume \pm 10 ml. Kultur diinkubasi dalam inkubator CO₂ selama 24-48 jam pada suhu 37°C.

Proses Inisiasi Kultur Sel Mieloma

Sel Mieloma hasil *thawing* disentrifus dengan kecepatan 1500 rpm suhu 4°C selama 5 menit, kemudian supernatan dibuang dan endapan sel ditambah dengan media RPMI yang mengandung FBS 10% sampai \pm 5 ml dan dihomogenkan. Jumlah sel dalam campuran tersebut dihitung, bila perlu diencerkan menggunakan media RPMI yang mengandung FBS 10% hingga diperoleh jumlah sel minimal 2×10^5 sel/ml. Kemudian dituang dalam sumur *microwell plate* sebanyak 0,9 ml dan diinkubasi dalam inkubator CO₂ suhu 37°C selama 24 jam.

Uji Aktivitas Sitotoksik

Sediaan uji dan sediaan kontrol pelarut masing-masing sebanyak 0,1 ml dimasukkan dalam sumur *microwell plate* yang telah berisi 0,9 ml suspensi sel hasil inisiasi. Replikasi dilakukan sebanyak dua kali. Selanjutnya diinkubasi dalam inkubator CO₂ suhu 37°C selama 24 jam. Kemudian dari masing-masing sumur diambil sebanyak 0,1 ml dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah dengan larutan *tripan blue* 0,5% sebanyak 0,1 ml (perbandingan 1:1) dan dihomogenkan. Dari campuran tersebut dipipet dan diletakkan diatas ruang hitung hemositometer. Perhitungan dilakukan dibawah mikroskop dengan pembesaran 100 kali. Viabilitas sel dihitung dengan rumus

$$\% \text{ viabilitas sel} = \frac{\text{Jumlah sel hidup}}{\text{Jumlah sel total}} \times 100\%$$

Data hasil pengamatan viabilitas sel mieloma mencit dianalisis dengan menggunakan *One Way ANOVA*, jika ada perbedaan diantara perlakuan dilanjutkan dengan uji LSD menggunakan program SPSS 12.0 for Windows.

Tabel 1. Hasil Uji Sitotoksitas Sari Buah Merah pada Kultur Sel Mieloma

	Konsentrasi	Replikasi	Jumlah Sel ($\times 10^4$)			% Viabilitas	Rata-rata % Viabilitas
			Hidup	Mati	Total		
Kontrol Negatif	1 ml suspensi sel	1	41	2	43	95,35	94,97
		2	70	4	74	94,59	
Kontrol Positif (Etoposida)	5 μ g/ml	1	21	29	50	42,00	43,91
		2	22	26	48	45,83	
Sari Buah Merah	5 mg/ml	1	39	13	52	75,00	75,25
		2	37	12	49	75,51	
	2,5 mg/ml	1	59	17	76	77,63	77,71
		2	49	14	63	77,78	
	1,25 mg/ml	1	55	15	70	78,57	80,19
		2	45	10	55	81,82	
	0,625 mg/ml	1	70	18	88	79,55	80,85
		2	69	15	84	82,14	
	0,312 mg/ml	1	65	12	77	84,42	84,42
		2	65	12	77	84,42	

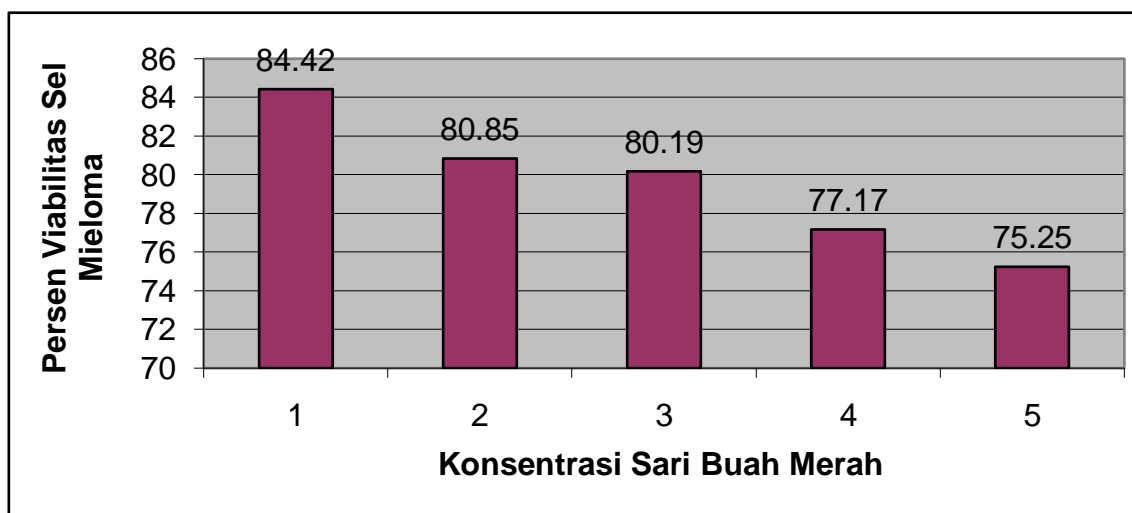
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji sitotoksik dari sari buah merah pada kultur sel mieloma dengan menggunakan parameter viabilitas sel dapat dilihat pada tabel 1 diatas.

Hasil uji aktivitas antikanker dengan melihat viabilitas sel mieloma dari sari buah merah pada kultur sel mieloma terlihat bahwa dengan kenaikan konsentrasi sari buah merah terjadi penurunan persentase viabilitas sel mieloma. Persentase viabilitas sel mieloma adalah jumlah sel hidup pada perlakuan dibagi jumlah sel total yaitu jumlah sel hidup ditambah jumlah sel mati. Pada penelitian ini dengan pemberian sari buah merah dengan dosis terendah yaitu 0,312 mg/ml terjadi penurunan viabilitas sel mieloma menjadi 84,42% dan secara berturut-turut peningkatan konsentrasi sari buah merah menjadi 0,625 mg/ml menyebabkan viabilitas sel menjadi 80,85%, konsentrasi 1,25 mg/ml menyebabkan viabilitas sel menjadi 80,19%, konsentrasi 2,5 mg/ml menyebabkan viabilitas sel menjadi 77,71% dan konsentrasi 5 mg/ml menyebabkan viabilitas sel menjadi 75,25%. Untuk lebih memperjelas pengaruh penambahan sari buah merah pada kultur sel mieloma dapat dilihat pada Gambar 1.

Hasil analisis statistik uji aktivitas antikanker dari sari buah merah terhadap kultur sel mieloma dapat dilihat pada lampiran 1. Dari hasil analisis statistik terlihat

bahwa ada perbedaan yang bermakna antar perlakuan terhadap viabilitas sel mieloma pada kultur sel mieloma yang ditunjukkan oleh harga signifikasi yang lebih kecil dari 0,05. Hasil analisis LSD menunjukkan bahwa ada perbedaan bermakna antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif etoposida dan dengan seluruh konsentrasi sari buah merah 0,312 ; 0,625 ; 1,25 ; 2,5 dan 5 mg/ml. Pada kelompok kontrol negatif (hanya berisi DMSO sebagai pelarut bahan uji) menunjukkan viabilitas sel mieloma sebesar 94,97 %, hal ini menunjukkan bahwa penggunaan pelarut DMSO tidak berpengaruh terhadap viabilitas sel mieloma sehingga kematian sel mieloma pada pemberian sari buah merah dan etoposida memang disebabkan oleh bahan aktif yang terkandung pada masing-masing bahan uji. Viabilitas sel mieloma terendah ditunjukkan oleh kelompok kontrol positif etoposida yang berbeda bermakna dengan kelompok kontrol negatif dan dengan seluruh kelompok perlakuan sari buah merah dengan berbagai konsentrasi dan viabilitas sel mieloma yang diberi sari buah merah dengan konsentrasi 5 mg/ml (konsentrasi tertinggi pada penelitian ini) lebih besar (berbeda bermakna) dari kontrol positif etoposida. Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi sari buah merah 5 mg/ml belum menghasilkan viabilitas yang sama dengan etoposida 5 µg/ml.



Gambar 1. Histogram uji aktivitas antikanker dari sari buah merah terhadap kultur sel mieloma

Hasil uji LSD antara konsentrasi sari

buah merah terlihat ada perbedaan yang bermakna antara konsentrasi sari buah merah, kecuali konsentrasi 0,625 dan 1,25 mg/ml tidak ada perbedaan viabilitas sel mieloma secara bermakna. Penambahan konsentrasi sari buah merah berakibat bertambah besar jumlah bahan berkhasiat yang terkandung didalamnya. Terbukti dengan semakin rendahnya viabilitas sel mieloma dengan penambahan konsentrasi sari buah merah.

Dalam penelitian ini aktivitas antikanker sari buah merah ditentukan dengan metode viabilitas sel yaitu merupakan salah satu metode uji aktivitas antikanker yang berdasarkan pada kemampuan sel untuk bertahan hidup terhadap pemaparan senyawa toksik. Untuk membedakan sel hidup dan sel mati digunakan pewarnaan dengan *tripan blue*, sel mati akan menyerap zat warna biru karena kematian sel akan diikuti oleh perubahan integritas membran sel sehingga membran sel menjadi permeabel dan dapat menyerap zat warna, sedangkan sel hidup membran selnya impermeabel sehingga tidak dapat menyerap warna. Sifat sitotoksik merupakan langkah utama dalam usaha penemuan obat antikanker baru berasal dari alam (Nooter *et al*, 1999). Penelitian antikanker bertitik berat pada bagaimana mekanisme sel kanker terbunuh oleh obat-obat sitotoksik untuk melihat kematian sel secara terprogram yang disebabkan oleh interaksi antara molekul obat dengan target molekul intraselluler. Target molekul intraselluler yang diharapkan adalah target spesifik pada sel kanker dan bukan pada sel normal.

Pada penelitian ini pemberian sari buah merah pada semua konsentrasi sudah dapat menyebabkan kematian sel mieloma. Pada dosis tertinggi yaitu 5 mg/ml mampu mematikan sel mieloma sebesar 24,75 %. Perlu dipertimbangkan juga bahwa sampel ini masih berupa sari buah merah yang berisi

macam-macam senyawa, sehingga kemungkinan besar hasil isolasi dari sari buah merah ini akan mempunyai kemampuan penghambatan terhadap sel kanker yang lebih besar. Aktivitas antikanker dari sari buah merah pada penelitian ini yang ditunjukkan oleh viabilitas sel mieloma, dimungkinkan karena bahan aktif yang terkandung dalam buah merah.

KESIMPULAN

Sari buah merah (*Pandanus conoideus*) dapat menurunkan viabilitas sel mieloma menjadi 75,25% pada konsentrasi 5 mg/ml.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih ditujukan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Airlangga melalui Proyek DIPA PNBP. Ucapan terima kasih juga kami sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Budi, I. M. 2003. Sari Buah Merah. Planta Sehat. Jakarta.
- Dalimartha, S. 2003. Ramuan Tradisional Untuk Pengobatan Kanker. Seri Agrisehat. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Hargono, P. 1993. Perspektif pengembangan Obat Tradisional di Indonesia.
- Katzung, B.G. 1995. Farmakologi dan Terapi. Edisi 4. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Nainggolan, D. 2001. Aspek Ekologis Kultivar Buah Merah panjang (*Pandanus conoideus*) di Daerah Dataran Rendah Manokwari. Fakultas Pertanian Universitas Cendrawasih Manokwari.
- Nooter, K. , Burger, H, Schenk, P and Stoter G. 1999. Molecular mechanisms of drug resistance and sensitivity, in *Oncological Research at the Erasmus University Rotterdam- University Hospital Rotterdam*.
- Rang, H.P., Dale, M.M and Ritter, J.M. 1995. *Pharmacology*, 3rd edition, Churchill Livingstone, New York and Tokyo.

